ATENUACIÓN NATURAL Y REMEDIACIÓN INDUCIDA EN SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

ROMINA ROMANIUK[1]; JUAN FELIPE BRANDT[2]; PAOLA RUTH RIOS & LIDIA GIUFFRÉ[1]

[1]Edafología-FAUBA - Av. San Martín 4453 (1417). Buenos Aires. Argentina.
[2]Bioservices Group S.A. Manzanares 1831 (1429). Buenos Aires. Argentina.

Recibido: 29/01/07
Aceptado: 11/09/07

RESUMEN

Los hidrocarburos derivados del petróleo constituyen la principal fuente de energía para la humanidad y son, a su vez, importantes contaminantes ambientales. En esta experiencia, se estimó y comparó la tasa de descomposición de dos tipos de hidrocarburos (gasoil y aceite de carter) por medio de las técnicas de atenuación natural y de la incorporación de un producto comercial específico en un suelo franco extraído del horizonte A de un Argiudol típico. Simultáneamente se evaluó el efecto de dichas prácticas tecnológicas sobre algunas variables edáficas. Los tratamientos fueron: [suelo sin contaminante testigo], [suelo + gasoil] [suelo + aceite de carter], [suelo + gasoil + producto], [suelo + aceite de carter + producto] y [suelo + producto]. La toma de muestra se realizó en la siguiente serie de tiempo [0;15; 30; 60; y 180 días].

La tasa de degradación de los hidrocarburos presentes en el gasoil y aceite de carter por la técnica de atenuación natural fue más lenta y menos efectiva que la obtenida al incorporar el producto comercial, alcanzando en este caso los valores finales más bajos de hidrocarburos totales de petróleo.

Entre las variables edáficas, el carbono oxidable y la respiración de la biomasa del suelo mostraron los mayores valores medios en los tratamientos de suelo contaminado. La incorporación del producto comercial produjo una disminución significativa en dichos valores, un aumento en la conductividad eléctrica, pero no influyó sobre el pH y el fósforo extractable del suelo.

Palabras clave. Gasoil, aceite de carter, degradación biológica, solidificación.

NATURAL ATTENUATION AND INDUCED REMEDIATION IN HYDROCARBON POLLUTED SOILS

ABSTRACT

The petroleum derived hydrocarbons represent the main energy source for the humanity and they are in turn, an important environmental polluting source. In this experience it was estimated and compared the rate of decomposition of two hydrocarbons (diesel and crankcase oil), by natural attenuation, and with the incorporation of a specific commercial product in a Typic Argiudoll. The effect of these practices was also evaluated on some soil variables. The treatments were: [control soil without pollution], [soil + gasoil], [soil + crankcase oil], [soil + gasoil + product], [soil + crankcase oil + product], [soil + product]. The soil sampling was carried out in the following series of time [0; 15; 30; 60 and 180 days]. The degradation rate of diesel and crankcase oil hydrocarbons by natural attenuation was slower and less effective than that obtained when adding the commercial product, the latter presented final lower values of Total Petroleum Hydrocarbons.

Among the soil variables, the oxidable carbon and the biomass soil respiration registered higher mean values for the polluted soils. The commercial product incorporation produced a significant decrease in these values, an increase in the electric conductivity, but no influence on the pH and the soil extractable phosphorous.

Key words. Diesel oil, crankcase oil, biologic degradation, solidification.

INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos derivados del petróleo, sin lugar a duda constituyen la principal fuente de energía para la humanidad, pero el uso de los mismos los convierte en un importante contaminante medioambiental (Verma *et al.*, 2006). A lo largo del siglo XX, se ha registrado en casi todo el mundo, un incremento vertiginoso en la cantidad de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo y sus derivados. La disposición final de cantidades excesivas del lodo aceitoso generado en las refinerías de petróleo así como la remediación de ecosistemas conta-

minados por derrames accidentales imponen grandes desafíos tecnológicos (Vasudevan & Rajaram, 2001).

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) son contaminantes ambientales propios de los sitios donde han ocurrido derrames de petróleo. Varios de los HPA, son considerados contaminantes persistentes en la matriz del suelo y sedimentos. Desde el descubrimiento de su poder cancerígeno, organismos internacionales, como la Organización Mundial de la Salud y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica, han regulado el nivel permitido de estas sustancias en el medio ambiente (Amador Hernández *et al.*, 1999).

La biomasa microbiana de los suelos contaminados con hidrocarburos contiene una importante cantidad de microorganismos, entre ellos bacterias y hongos, facultados para utilizarlos como una fuente de energía para su propio crecimiento y desarrollo (Sutherland, 1992). La tasa de la degradación microbiana de hidrocarburos en suelos está condicionada por parámetros fisicoquímicos como: presencia de nutrientes, contenido de oxígeno, presión parcial de los gases, temperatura, pH, contenidos de sales, tamaño y distribución de partículas, capacidad reguladora del suelo (Margesin & Schinner, 1997) y por la solubilidad, cantidad y biodisponibilidad de los contaminantes (Obuekwe *et al.*, 2005).

Uno de los principales mecanismos, para eliminar el petróleo y otros hidrocarburos contaminantes del suelo, es la biodegradación por poblaciones nativas de microorganismos del suelo (Tempest *et al.*, 1978). La técnica de remediación, basada en el potencial biodegradativo natural de un suelo, se denomina "atenuación natural" o "biodegradación intrínseca" y está propuesta como una práctica "costo-efectiva" óptima de bajo riesgo (Corona-Ramírez & Iturbe-Argüelles, 2005; Margesin & Shinner, 2001).

En este trabajo se estimó y comparó la tasa de descomposición de dos tipos de hidrocarburos (gasoil y aceite de carter) por medio de las técnicas de atenuación natural y de la incorporación de un producto comercial específico, en un suelo franco, extraído del horizonte A de un Argiudol Típico. Simultáneamente se evaluó el efecto de dichas prácticas tecnológicas sobre algunas variables edáficas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó sobre un suelo franco, extraído del horizonte A de un Argiudol típico (Tabla 1). El mismo se dispuso en macetas de 30 cm de diámetro por 40 cm de pofundidad, las cuales fueron colocadas a la intemperie, en un diseño completamente aleatorizado. Constó de seis tratamientos: suelo sin contaminante testigo (T), suelo + gasoil (G), suelo + aceite de carter (A), suelo + gasoil + producto (G+X), suelo + aceite de carter + producto (A+X), suelo + producto (T+X). Se realizaron tres repeticiones por tratamiento. El nivel de contaminación de hidrocarburos fue del 20% del peso de suelo seco. El producto comercial, de formulación reservada, fue utilizado en la dosis recomendada por el fabricante. Visualmente, el producto puede apreciarse como constituido por partículas angulares sueltas con un tamaño que varía entre 0,5 y 2 mm de color blanco grisáceo. En la Tabla 2 figuran algunas de sus características físicas y químicas de relevancia.

Tabla 1. Algunas propiedades físicas y químicas del suelo utilizado en el ensayo.
Table 1. Some physical and chemical properties of the utilized soil.

Horizonte	Arcilla (%)	Limo (%)	Arena (%)	C (%)	pH (1:2,5)	CE (ds/m)	CIC ($cmol_c$ kg^{-1})
A	24,5	48	27,5	1,92	6,7	0,48	18,2

Tabla 2. Algunas propiedades físicas y químicas del producto comercial.
Table 2. Some physical and chemical properties of the commercial product.

	Densidad aparente (g/cm^3)	Superficie específica (m^2/g)	Absorción (%)	pH (1:2,5)	CE (ds/m)
Producto comercial	0,6	10	65	7,5	2

Se tomaron muestras simples, a una profundidad de 20 cm para cada uno de los tratamientos, en una serie de tiempo desde los 0, 15, 30, 60 y 180 días de comenzado el ensayo. Se tomaron registros de temperatura medias mensuales y precipitaciones caídas (Tabla 3). Se realizaron determinaciones de hidrocarburos totales del petróleo mediante el método EPA 418,1 (EPA,1986), carbono oxidable (Nelson & Sommers, 1982), respiración en laboratorio (Jenkinson y Powlson, 1976), fósforo extractable (Bray & Kurtz, 1945), pH actual (Page, 1982) y conductividad eléctrica en extracto de saturación (Rhoades, 1982). Los datos fueron en primera instancia evaluados mediante análisis multivariado. Se realizó Análisis de Conglomerados, el cual es frecuentemente usado como método exploratorio de datos con la finalidad de obtener mayor conocimiento sobre la estructura de las observaciones en estudio. Este análisis requiere medir la similitud entre entidades a agrupar, por lo que se trabaja con medidas de disimilaridad o distancias. De esta manera, permite agrupar los tratamientos a través de los valores de las variables estudiadas. Se utilizó el método jerárquico de encadenamiento de Ward o también llamado método de mínima varianza (Ward, 1963). La distancia utilizada fue la Euclidea promedio.

También se realizó análisis de Componentes principales, el cual permite analizar la interdependencia de variables y encontrar una representación gráfica óptima de la variabilidad de los datos, donde pueden visualizarse tanto tratamientos como variables, a fin de estudiar la asociación existente entre ellas. Este análisis permite encontrar un nuevo conjunto de variables, representadas a través de las componentes principales (CP) no correlacionadas que expliquen la estructura de la variación de los datos, con la menor pérdida de información posible. Como resultado del mismo, se presentan los autovalores correspondientes a cada CP. Los mismos hacen referencia a la proporción de la variabilidad total explicada por cada componente, y a la proporción de la variabilidad total explicada, en forma acumulada. También se presentan los Autovectores, que son los coeficientes con que cada variable original fue ponderada para conformar las CP. Permiten ver la incidencia que tuvo cada variable en la definición de los ejes de las componentes principales.

En segundo término se realizó un análisis de varianza y Test de Tukey para comparación de medias entre tratamientos.

Se utilizó el programa estadístico INFOSTAT versión 1.1. (Infostat, 2002)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I. Análisis multivariado

En la Figura 1 se observa el análisis de conglomerados que muestra el agrupamiento de las situaciones de estudio. Los tratamientos dentro de un mismo grupo comparten el mayor número permisible de características, y tienden a ser distintos a los contenidos en otros grupos. En un primer nivel, que corresponde a la distancia 2,62, se separan los tratamientos del suelo testigo (T) y testigo más producto (T+X), de los tratamientos correspondientes a los suelos contaminados (A y G). Esta comparación estadística evidencia que la contaminación del suelo con hidrocarburos produce cambios importantes en las variables edáficas estudiadas. Los tratamientos correspondientes a los suelos contaminados con y sin agregado de producto se segregan en dos subgrupos, dentro de un segundo nivel, correspondiente a una distancia aproximada de 1,60. Esta separación, indica que la incorporación del producto comercial produce cambios apreciables sobre los tratamientos correspondientes a los suelos contaminados con aceite de carter y gasoil (A y G).

La Tabla 4 muestra los autovalores correspondientes a cada componente principal (CP). La CP1 explica el 62% de la variabilidad del modelo, y la CP2 el 29%. Entre ambas logran explicar el 91% de la variabilidad total, por lo que se consideró sólo estas dos CP para el resto del análisis.

Tabla 3. Series de muestreo (SM), fechas de muestreo (FM), temperaturas medias mensuales (T) y precipitaciones caídas (P) durante el experimento.

Table 3. Sampling times series (SM), sampling time dates (FM), mean monthly temperature (T) and rainfall (P) during the experiment.

	2005/06						
	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
SM	0	15	30	60	90		180
FM	17	3	17	18	17		17
T (ºC)	13,5	16,5	21,7	21,8	24,0	23,4	19,8
P (mm)	57,4	35,1	69,9	33,3	247,6	201,4	149,4

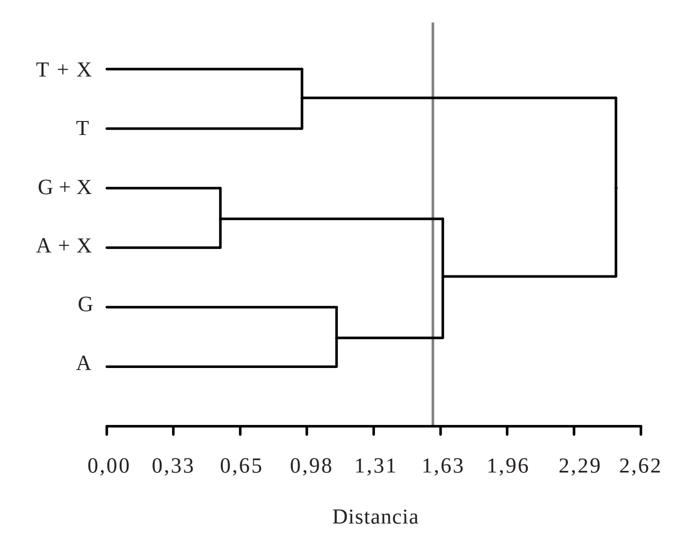


Figura 1: Análisis de conglomerados incluyendo la totalidad de los tratamientos y serie de tiempos de muestreo.
Figure 1: Conglomerate analysis including all the treatments and sampling time series.

Tabla 4. Autovalores correspondientes a los Componentes Principales (CP), Proporción de la variabilidad explicada por cada CP (Prop. Var) y Proporción Acumulada (Prop. Acum) de la variabilidad total del modelo.

Table 4. Principal Components (CP) Eigenvalues, Variability proportion explained for each CP (Prop Var), and Accumulative Variability Proportion of the model (Prop Acum).

CP	Autovalores	Prop. Var.	Prop. Acum.
1	3,70	0,62	0,62
2	1,76	0,29	0,91
3	0,54	0,09	1,00
4	4,4E-03	7,4E-04	1,00
5	4,6E-04	7,7E-05	1,00
6	0,00	0,00	1,00

Tabla 5. Autovectores (e) correspondientes a la CP1 (e1) y a la CP2 (e2) para las variables analizadas.

Table 5. Eigenvectors (e) corresponding to the CP1 (e1) and CP2 (e2) for the analyzed variables.

Variables	e1	e2
P	-0,46	-0,25
pH	0,09	**0,71**
C	**0,50**	-0,10
CE	-0,08	**0,64**
HTP	**0,52**	-0,04
RESP	**0,51**	-0,12

En la Tabla 5 puede observarse que en la componente principal 1, tuvieron gran incidencia los HTP, RESP y el C. Para la componente principal 2 las principales variables fueron CE y pH.

En la representación gráfica de la Figura 2, se observa la asociación estadística entre tratamientos y variables estudiadas, como así también la correlación entre estas últimas.

Los tratamientos correspondientes a los suelos contaminados con aceite de carter (A) y gasoil (G), principalmente, están más asociados a las variables HTP, C y RESP, mientras que los tratamientos de los suelos contaminados con gasoil y aceite de carter e incorporación del producto comercial (G+X y A+X), presentaron menores valores para dichas variables.

El análisis estadístico de los componentes principales evidenció que la incorporación del producto comercial produjo disminuciones en los contenidos de HTP, consecuentemente de C y también disminuyeron los valores de respiración, indicando que la degradación biológica, no sería la causa primordial de la reducción de los valores de hidrocarburos totales.

En la Figura 2 se observa que los tratamientos T+X, G+X y A+X, estuvieron más asociados a las variables pH y CE, evidenciando que la incorporación del producto comercial, provocó un incremento en los valores de dichas variables edáficas.

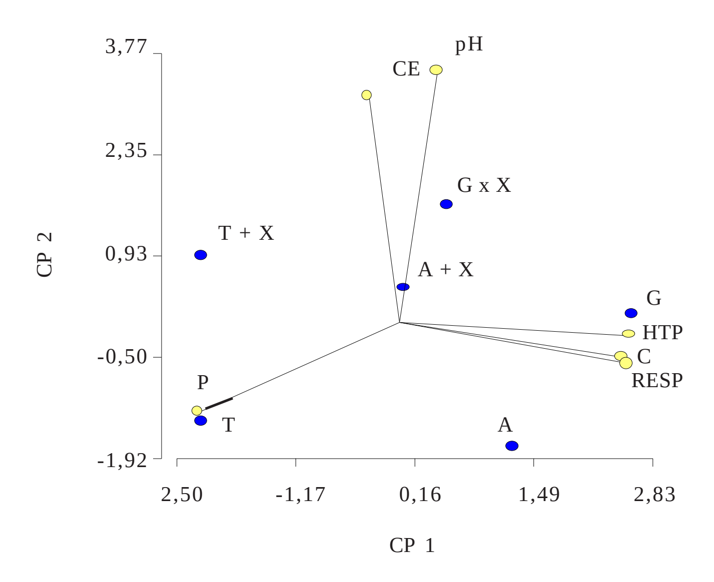


Figura 2: Bi – plot correspondiente al análisis de componentes principales incluyendo la totalidad de los tratamientos, la serie de tiempos de muestreo y las variables edáficas estudiadas.

Figure 2: Bi – plot for principal component analysis for all the treatments and sampling time series including all the studied variables.

Es notorio que las variables HTP, C y RESP estuvieron fuertemente asociadas, circunstancia que no ocurrió con las restantes variables bajo estudio.

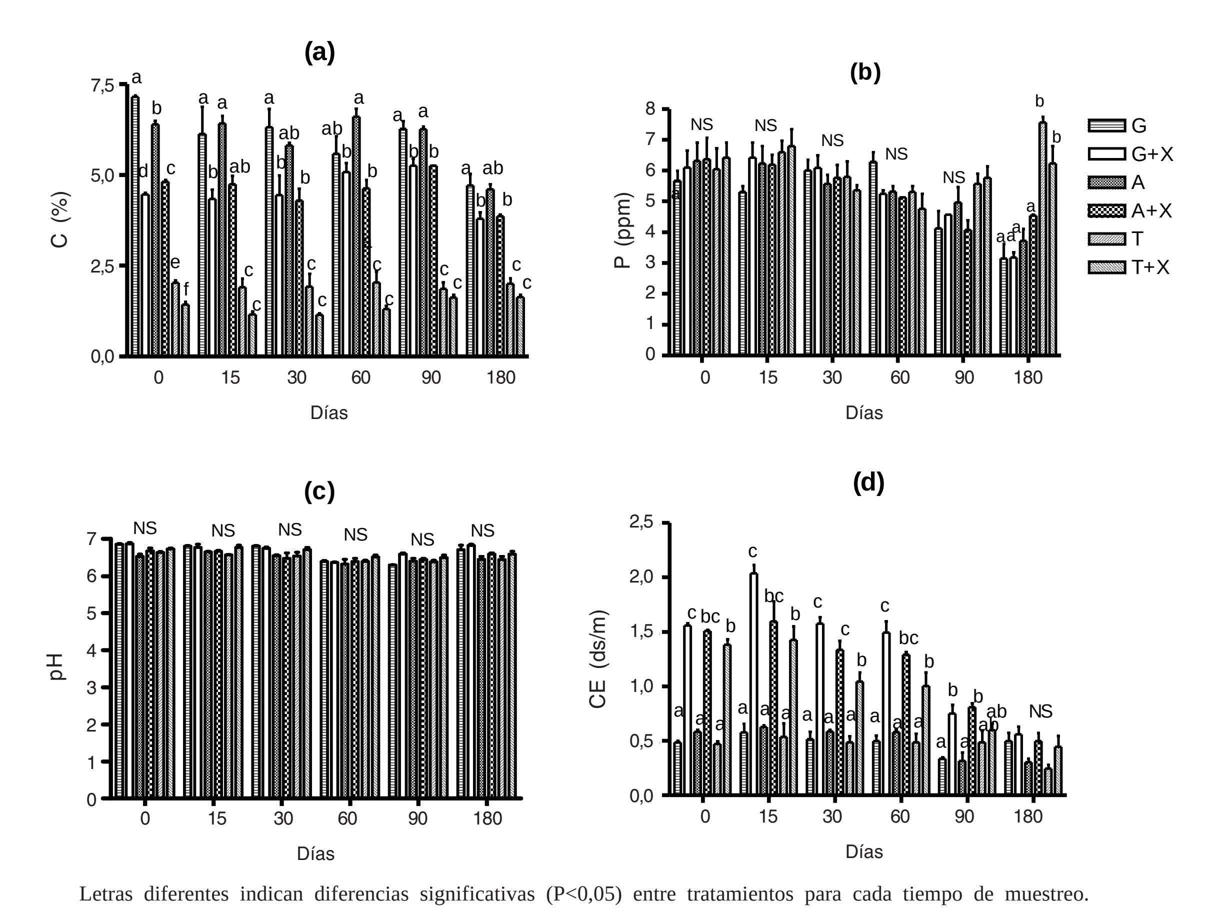
II. Carbono oxidable, fósforo extractable, pH y conductividad eléctrica

En la Figura 3 (a) se presentan los valores medios de carbono oxidable, los desvíos estándar y las diferencias encontradas entre tratamientos para los diferentes tiempos de muestreo. En el tiempo 0, el tratamiento Suelo + Gasoil (G), presentó valores significativamente mayores que el correspondiente a Suelo + Aceite de carter (A), y ambos fueron mayores que el testigo (T). La incorporación del producto comercial en los tratamientos Suelo + Gasoil, Suelo + Aceite de carter y Testigo provocó una disminución significativa de los valores de carbono. En los tiempos 30, 60 y 90 días se mantuvo la misma tendencia, pero no se encontraron diferencias significativas entre el Testigo (T) y el Testigo con la incorporación del producto comercial (T+X). Tampoco a los 180 días se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos Suelo + Aceite de carter (A) y Suelo + Aceite de carter + Producto comercial (A+X).

La Figura 3 (b) muestra los cambios en el fósforo extractable. Para los tiempos 0, 15, 30, 60 y 90 días no se hallaron diferencias significativas entre tratamientos. Para el tiempo 180, los tratamientos Testigo (T) y Suelo + Producto comercial (T+X) presentaron los mayores valores ($P<0,05$), hecho posiblemente relacionado al aumento de las temperaturas medias registradas en dicho período, lo que trae aparejado aumentos en la solubilidad del P y liberación del mismo a la solución del suelo. Para el resto de los tratamientos (G, G+X, A y A+X), no se observaron diferencias significativas, lo que podría ser consecuencia de la adsorción del P por parte del Aceite de carter y el Gasoil.

En la Figura 3 (c), se visualiza que no se encontraron diferencias significativas en la variable pH entre los tratamientos y la serie de tiempos de muestreo.

En la Figura 3 (d), se detalla el aumento significativo de los valores de conductividad eléctrica ante la incorporación del producto comercial (tiempo 0). Esto resulta lógico al observar los mayores valores de CE del producto (2 ds/m) en comparación a los presentes en el suelo utilizado en este ensayo (0,48 ds/m) (Tabla 1 y 2). Esta diferencia entre tratamientos se mantiene para las series de tiempo 15, 30 y 60, sin embargo, la observación global de la Figura 3 (d) permite observar una tendencia hacia la disminución progresiva en los valores de CE de los tratamientos con agregado de producto comercial (A+X, G+X y T+X), de manera que al finalizar el ensayo (tiempo 180) llegaron a alcanzar valores similares a los tratamientos carentes del producto(A, G y T), sin observarse



Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0,05) entre tratamientos para cada tiempo de muestreo.

Figura 3. Valores medios del Carbono oxidable (a), fósforo extractable (b), pH (c) y conductividad eléctrica (d) para la totalidad de los tratamientos y serie de tiempos de muestreo.

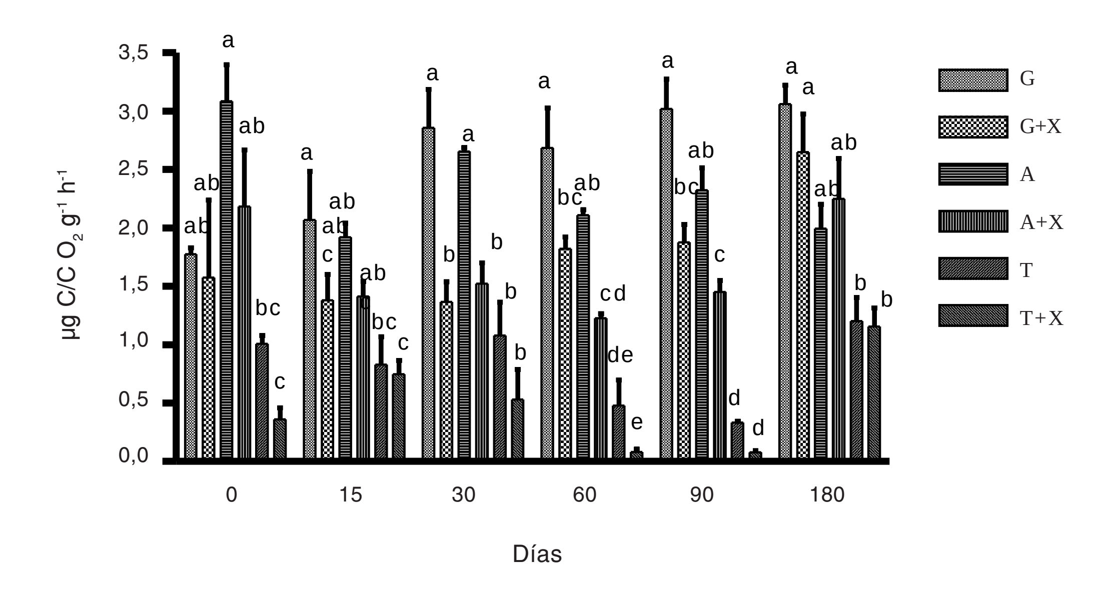
Figure 3. Medium values for oxidable carbon (a), extractable phosphorous (b), pH (c) and electrical conductivity (d) for all the treatments and sampling time series.

diferencias significativas entre los mismos. Entre las posibles causas de este efecto puede contarse la decadencia del producto, su disolución y su posterior infiltración y escurrimiento como consecuencia de las precipitaciones.

III. Respiración del suelo

En el tiempo inicial (0 días), el tratamiento Suelo + Aceite de carter (A) presentó los mayores valores de RESP, mientras que a los 15 días fue el tratamiento Suelo + Gasoil (G) el que presentó los mayores valores. En sendos casos, estas diferencias sólo fueron significativas respecto de los tratamientos Testigo (T) y Testigo + Producto comercial (T+X). Este comportamiento diferencial de la actividad de la biomasa microbiana podría estar asociado con disímiles potenciales de unión del C en las estructuras del gasoil y del aceite de carter, y en consecuencia, a la facilidad de su uso como fuente de energía por los microorganismos del suelo. No obstante, si bien se ha demostrado que los suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo pueden contener una mayor población de biomasa que los suelos no contaminados, su diversidad biológica es más reducida (Messarch & Nies, 1997). Mendoza *et al.* (1998) afirman que la cantidad total de microorganismos, no necesariamente es mayor en los suelos contaminados con hidrocarburos, aunque si lo es la población de organismos degradadores de estos compuestos.

La incorporación del producto comercial tanto en los suelos, contaminados como en el testigo disminuyó en



Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0,05) entre tratamientos para cada tiempo de muestreo.

Figura 4. Respiración del suelo (μg C/CO_2 $g^{-1}h^{-1}$) para la totalidad de los tratamientos y serie de tiempos de muestreo analizados.
Figure 4. Soil respiration (μg C/CO_2 $g^{-1}h^{-1}$) for all the treatments and sampling time series.

término general los valores de RESP. No fueron observadas diferencias significativas en los tratamientos del suelo testigo (T y T+X), mientras que sí se encontraron en los correspondientes al gasoil (G y G+X) y al aceite de carter (A y A+X) específicamente en los tiempos de muestreo 30, 60 y 90.

IV. Hidrocarburos totales del petróleo

En la Tabla 6, se observa que los valores de HTP para los tratamientos Testigo (T) y Testigo + Producto comercial (T+X) fueron significativamente inferiores a los encontrados para Suelo + Gasoil (G) y Suelo + Aceite de Carter (A) en la totalidad de la serie de tiempos de muestreo analizados, pero no fueron significativamente diferentes entre sí.

Los valores de HTP encontrados en el tratamiento Suelo + Gasoil (G) fueron significativamente mayores que los correspondientes a Suelo + Gasoil + Producto comercial (G+X) en los tiempos 0 y 15 días, período a partir del cual no se observaron diferencias significativas entre dichos tratamientos. Este comportamiento del producto comercial podría interpretarse como una disminución de la efectividad a partir de ese período de tiempo de incorporación al suelo [Figura 5 (a)].

Los valores de HTP fueron mayores para el tratamiento Suelo + Aceite de Carter (A) que para el correspondiente a Suelo +Aceite de Carter + Producto comercial (A+X) en todos los momentos de muestreo, aunque dichas diferencias solo fueron estadísticamente significativas para los tiempos 15 y 180 días.

Cabe destacar que en ambos casos, la mayor efectividad del producto en la reducción de los valores de HTP, se dio durante los primeros 30 días [Figura 5 (a)], período a partir del cual las diferencias observadas entre tratamientos, con y sin incorporación de producto comercial, fueron mínimas. La totalidad de los tratamientos correspondientes a los suelos contaminados (A, A+X, G, G+X) disminuyeron en forma significativa su contenido de (HTP) desde el inicio al final del ensayo (tiempo 0 vs 180).

Tabla 6. Valores medios de hidrocarburos totales del petróleo (mg kg^{-1}) para todos los tratamientos y tiempos de muestreo.

Table 6. Medium values for total petroleum hydrocarbons (mg kg^{-1}) for all the treatments and sampling time series.

Días	Tratamiento											
	G		G+X		A		A+X		T		T+X	
0	99.236	a	70.593	b	58.870	b	51.243	b	443	c	178	c
15	100.707	a	22.050	c	80.892	b	31.140	c	624	d	56	d
30	25.025	ab	26.517	ab	44.977	a	31.213	ab	158	c	65	c
60	61.516	a	49.333	a	46.543	a	36.839	a	223	b	48	b
90	29.466	ab	23.123	ab	39.366	a	23.767	ab	90	b	63	b
180	4.520	ab	2.473	bc	6.076	a	1.709	bc	23	c	20	c

Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0,05$) entre tratamientos para cada tiempo de muestreo.

V. Hidrocarburos totales del petróleo y respiración

Pudo observarse que en los primeros 15 días no se produjo disminución en los valores de HTP en los tratamientos correspondientes a los suelos contaminados (G y A) [Figura 5 (ai) y (aii)]. Esto se vio reflejado en la respiración para este mismo período, con una tasa levemente positiva para el tratamiento Suelo + Gasoil (G) y negativa para Suelo + Aceite de carter (A) [Figura 5 (bi) y (bii)], en este último caso, probablemente asociado a la presencia de altos niveles de metales pesados que pueden inhibir el crecimiento microbiano. Este retardo en el comienzo de la biodegradación puede ser consecuencia de una aclimatación microbiana inicial, en la cuál la comunidad microbiológica preexistente se reorganiza como consecuencia del cambio microambiental que provocan los hidrocarburos vertidos, variando las proporciones relativas de las poblaciones que la conforman, pero sin llegar a una actividad degradativa intensa hasta que no se alcance el nuevo equilibrio comunitario. En un ensayo realizado por Trindade *et al.* (2005) observaron que a causa de dicha aclimatación bacteriana, no se registraron pérdidas de HTP hasta el día 15 postcontaminación. A su vez, Walecka-Hutchison & Walworth (2006) sugieren que a elevados niveles de contaminación puede ocurrir una moderada inhibición inicial de la actividad microbiana.

El posterior aumento de la respiración para los tratamientos correspondientes a suelo contaminado con Aceite de carter (A) y gasoil (G), podría responder a la adaptación a las nuevas condiciones de contaminación y posterior crecimiento de la flora microbiana del suelo. Para ambos tratamientos, la mayor tasa de disminución de HTP se encontró entre los 15 y 30 días [Figura 5 (ai) y (aii)], y coincide con el incremento ascendente de la tasa de respiración, para este mismo período, [Figura 5 (bi) y (bii)].

Entre los 30 y 60 días, la tasa de degradación de HTP se mantuvo relativamente constante para el suelo contaminado con Aceite de carter (A), mientras que para el suelo contaminado con Gasoil (G), se observó un incremento en los valores de HTP entre los 30 y 60 días Esto podría deberse a errores de muestreo y/o de los métodos de laboratorio, los cuales selen ser comunes cuanto más cercanas sean las fechas de análisis de la variable. Sin embargo, Serrano *et al.* (2006) afirman que puede haber una moderada elevación en los niveles de HTP después de los 40 días de la contaminación, debido a que la degradación de los hidrocarburos más complejos genera subproductos no degradados que contribuyen a dicho asenso. Margesin & Schinner (2001) reportan que, luego de un descenso inicial de HTP, se produjo un leve incremento aparente de esta variable debido a la producción de biosurfactantes microbianos los que causan esta liberación o movilización de hidrocarburo. Debido a la síntesis de estos compuestos emulsificantes cae la respiración microbiológica simultáneamente a la suba de HTP.

A partir de los 60 días y hasta finalizar el ensayo se observó la reducción en la tasa de degradación de HTP para ambos tratamientos. Los cambios acontecidos en la tasa de degradación de los HTP podría explicarse por la biodegradación inicial de los hidrocarburos, y su posterior adsorción en la fase estable sólida del suelo (Mendoza, 1998), limitando su acceso para los microorganismos y disminuyendo en consecuencia la tasa de biodegradación (Ehlers & Luthy, 2003).

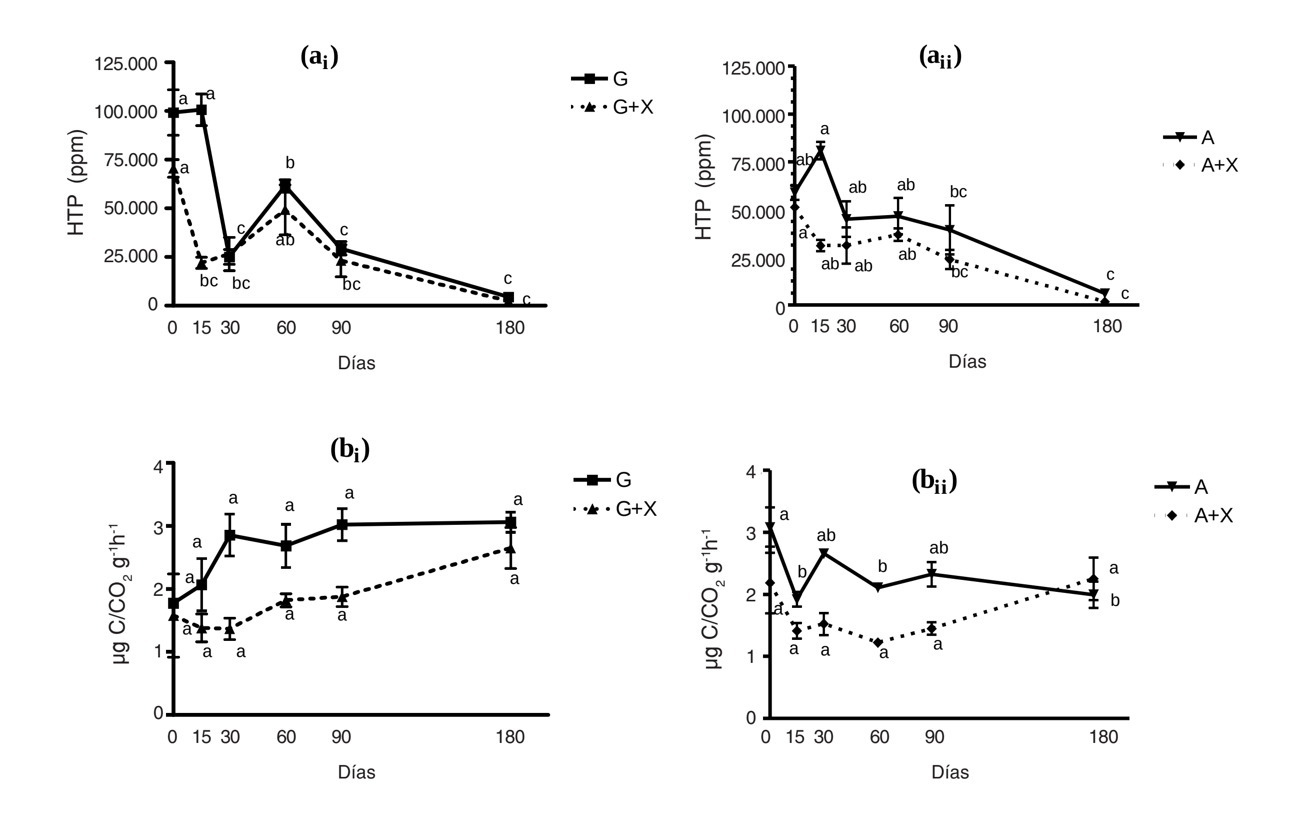


Figura 5. Curvas de degradación de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) (a) y respiración (RESP) (b) para Suelo + Gasoil (G), Suelo + Gasoil + Producto comercial (G+X) (i) y Suelo + Aceite de carter (A), Suelo + Aceite de carter + Producto comercial (A+X) (ii), respectivamente, para la serie de tiempos de muestreo.

Figure 5. Total petroleum hydrocarbon degradation curves (a) and soil respiration (b) for the treatments Soil + Gasoil (G), Soil + Gasoil + Commercial product (G+X) (i) and Soil + Crankcase oil (A) and Soil + Crankcase oil + Commercial product (A+X) (ii) respectively for all the sampling times series.

La tasa de degradación de HTP en los tratamientos con la incorporación del producto comercial (A+X y G+X) fue en líneas generales similar a la correspondiente a los respectivos tratamientos de suelo contaminado con Aceite de carter (A) y Gasoil (G), excepto en los primeros 15 días [Figura 5 (ai) y (aii)] período durante el cual se registró la mayor tasa de degradación de HTP. Esta condición estaría principalmente asociada a la difusión o adsorción de los hidrocarburos en la matriz del producto comercial, más que a su biodegradación, ya que para este período, se encontró una disminución en los valores de respiración [Figura 5 (bi) y (bii)]. Esto pondría en evidencia la existencia de un proceso "solidificación" de los HTP por parte del producto comercial, que implicaría la "oclusión física" del mismo (USEPA, 2003).

VI. Valores finales de hidrocarburos totales del petróleo

En la Figura 6, se presentan los valores de HTP a partir de los cuales un suelo se considera remediado, según las normas holandesas: 5.000 mg kg^{-1} (Frank, 1999) y su comparación con los valores de HTP obtenidos al finalizar el ensayo para los tratamientos Suelo + Gasoil (G), Suelo + Gasoil + Producto comercial (G+X), Suelo +Aceite de Carter (A) y Suelo + Aceite de Carter + Producto comercial (A+X).

Se puede observar que los tratamientos Suelo + Gasoil + Producto comercial (G+X), y Suelo + Aceite de Carter + Producto comercial (A+X) presentaron valores por debajo del límite establecido en las normas holandesas,

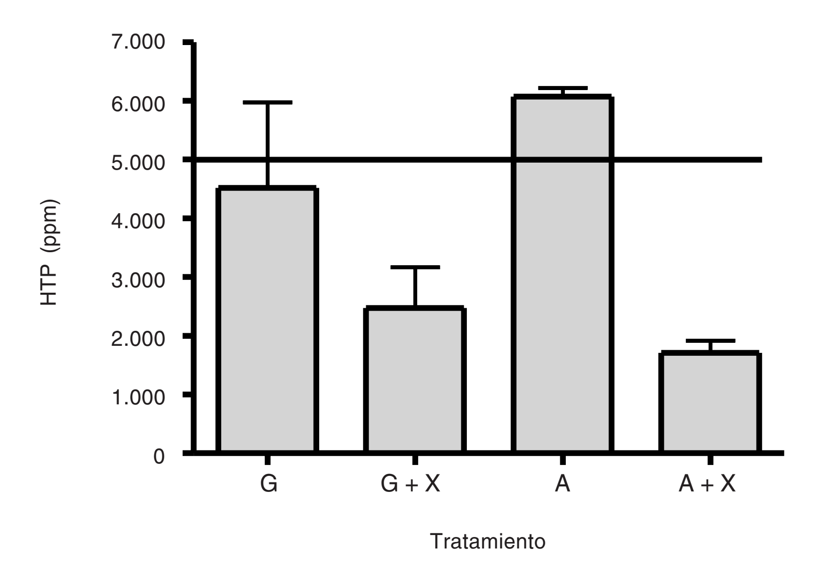


Figura 6. Valores de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) (mg kg^{-1}) a partir de los cuales un suelo se considera remediado para las normas holandesas (HOL) y su comparación con los valores alcanzado luego de 180 días en los tratamientos Suelo + Gasoil (G), Suelo + Gasoil + Producto comercial (G+X), Suelo + Aceite de carter (A) y Suelo + Aceite de carter + Producto comercial (A+X).

Figure 6. Total petroleum hydrocarbons values (mg kg^{-1}) from which a soil is considered remediated for the Dutch norms (HOL) and their comparison with the values obtained in 180 days for the treatments Soil + Gasoil (G), Soil + Gasoil + Commercial product (G+X), Soil + Crankcase oil (A) and Soil + Crankcase oil + Commercial product (A+X).

mientras que los tratamientos Suelo + Gasoil (G), y, especialmente Suelo +Aceite de Carter (A) están por encima de los valores aceptables.

CONCLUSIONES

La disminución en los valores de HTP en los suelos contaminados con gasoil (G) y aceite de carter (A) mediante el proceso de atenuación natural fue más lenta y menos efectiva que la obtenida por la incorporación del producto comercial, en términos de los valores finales de HTP alcanzados al término del ensayo.

La efectividad del producto comercial fue mayor en los primeros 30 días, disminuyendo gradualmente a partir de este período.

El agregado del producto comercial a los suelos, incrementó los valores de la conductividad eléctrica al inicio del ensayo, disminuyendo gradualmente a lo largo de la experiencia, sin encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos, con y sin agregado del producto comercial a los 180 días. Las restantes variables edáficas estudiadas no fueron afectadas por la incorporación del producto comercial.

BIBLIOGRAFÍA

Amador Hernández, J; L López Martinez; PL López de Alba; A Caldera Estela JM & V Cerda. 1999. Determinación simultánea de seis hidrocarburos policíclicos aromáticos en medio micelar por regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS-1) utilizando espectros de fluorescencia de angulo variable lineal. *Bol. Soc. Chil. Quím.* 44(3): 299-313.

Bray, RH & LT Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59: 39-45.

Corona-Ramírez, L & R Iturbe-Argüelles. 2005. Atenuación natural en suelos contaminados con hidrocarburos. *Ing. Inv. y Tec.*, VI(2): 119-126.

Ehlers, LJ & RG Luthy. 2003. Contaminant bioavailability in soil and sediment: improving risk assessment and remediation rests on better understanding bioavailability. *Environ. Sci. Technol.* 37: 295A-302A.

EPA. 1986. Method 418.1 mod. Petroleum Hydrocarbon. Total Recoverable Spectrophotometer Infrared. Environmental Protection Agency. Washington, Dc. EE.UU. 8pp.

Frank, AS. 1999. Risk-Based Assessment of Soil and Groundwater Quality in the Netherlands: Standards and Remediation Urgency. *Risk Analysis* 19: 1235-1249.

InfoStat. 2002. InfoStat, versión 1.1. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas Argentina.

Jenkinson, DS & DS Powlson. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* 8: 209-213.

Margesin, R & F Shinner. 1997. Efficiency of indigenous and inoculated cold-adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel oil in alpine soils. *Appl.Environ. Microbiol.* 63: 2660-2664.

Margesin, R & F Shinner. 2001. Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area. *Appl. Environ. Microbiol*. 67: 3127-3133.

Mendoza, RE. 1998. Hydrocarbon leaching, Microbial population, and plant growth in soil amendment with petroleum. *Biorem. J*. 1(3): 223-231.

Messarch, M B & L Nies. 1997. Modification of heterothropic plate counts for assessing the bioremediation potencial of petroleum-contaminated soils. *Environ. Technol*. 18: 639-646.

Nelson, DW & LE Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. Pp. 539-579 en AL Page *(ed.). Methods of soil analysis*. Part 2. American Society of Agronomy, USA.

Obuekwe, CO; AM Badrudeen; E Al-Saleh & JL Mulder. 2005. Growth and hydrocarbon degradation by three desert fungi under conditions of simultaneous temperature and salt stress. *Internat. Biodet. Biodeg.* 56: 197-205.

Page, AL. 1982. Ed. Methods of soil Analysis. Part 2. Chemical and microbiological PROPERTIES. 2nd Edition. Madison, Wisc. USA, American Society of Agronomy (Agronomy Series no. 9).

Rhoades, JD. 1982. Soluble salts. *In:* AL Page; RH Miller & DR Keendy. Ed. Methods of soil Analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2nd Ed. Madison, Wisc., American Society of Agronomy, pp. 167-179. (Agronomy Series Nº 9).

Sutherland, JB. 1992. Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi. J. *Ind Microbiol.* 9: 53-62.

Serrano, A; M Gallego & JL Gonzalez. 2006. Assessment of natural atenuation of volatile aromatic hydrocarbons in agricultural soil contamined with diesel fuel. *Environ Pollution*. 144: 203-209.

Tempest, DW. 1978. The biochemical significance of microbial grows yields: an assessment. *Trends. Biochem. Sci*. 3: 180-184.

Trindade, PVO; G Sobral; ACL Rizzo; SGF Leite & AUSoriano. 2005. Bioremediation of a weathered and recently oil-contamined soil from Brazil: a comparision study. *Chem.* 58: 515-522.

U.S.EPA - United States Environmental Protection Agency. Best Management Practices (BMPs) for Soils Treatment Technologies: Suggested Operational Guidelines to Prevent Cross-Media Transfer of Contaminants During Cleanup Activities. Chapter 10.5:

Solidification/stabilization. Pp 97 -100. 2003. U.S. EPA (5303W) Office of Solid Waste, 401 M Street, SW Washington, DC 20460.

Vasudevan, N & P Rajaram. 2001. Bioremediation of oil sludge-contaminated soil. *Environ. Internat*. 26: 409-411.

Verma, S; R Bhargava & V Pruthi. 2006. Oily sludge degradation by bacteria from Ankleshwar, India. *Internat. Biodet. Biodeg*. 57: 207-213.

Walecka - Hutchison, CM & JL Walworth. 2006. Assessment of C:N ratios and water potencial for Nitrogen optimization in Diesel bioremediation. *Biorem. J*, 10 (1-2): 25-35.

Ward, JH. 1963. Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. *J. Am. Stat. A.,* 58: 236-244.